



卵巣チョコレート嚢胞および卵巣癌に合併する 卵巣子宮内膜症における HER2 蛋白発現の検討

天野 陽子 小畑孝四郎 生駒直子 大村 元 三橋洋治
井上芳樹 太田善夫¹

近畿大学医学部奈良病院産婦人科 ¹近畿大学医学部奈良病院臨床検査部

抄 録

卵巣子宮内膜症のうち古い血液を内溶液として嚢胞状になった卵巣チョコレート嚢胞の上皮にはエストロゲンレセプターやプロゲステロンレセプターの発現が減弱しており、これがチョコレート嚢胞に対するホルモン療法の効果を減弱させている一要因となっている可能性がある。そこで、チョコレート嚢胞に対する新たな治療戦略を求めて卵巣チョコレート嚢胞における HER2 蛋白の発現を免疫組織化学的に検討した。その結果、卵巣チョコレート嚢胞における HER2 蛋白の発現は80%にみられ、HER2 蛋白の過剰発現は30%に認められたが、HER2 遺伝子の増幅は確認されなかった。さらに、チョコレート嚢胞は卵巣明細胞腺癌の発生母地となることから、卵巣明細胞腺癌に合併している卵巣子宮内膜症における HER2 蛋白の過剰発現を検討した。その結果、HER2 蛋白の過剰発現は卵巣子宮内膜症で0%、異型子宮内膜症33.3%、卵巣明細胞腺癌69.2%に認められ、卵巣明細胞腺癌の発生に HER2 遺伝子の異常が関与している可能性が示唆された。以上の結果を総合的に検討してみると、卵巣チョコレート嚢胞は卵巣明細胞腺癌の発生母地として最適な状態であることが裏付けられた。

Key words: HER2 蛋白, 卵巣チョコレート嚢胞, 卵巣明細胞腺癌, 癌化

緒 言

卵巣チョコレート嚢胞に対しては手術療法、薬物療法など様々な治療が行われているが、卵巣チョコレート嚢胞における子宮内膜類似上皮細胞にはエストロゲンレセプター(ER)、プロゲステロンレセプター(PR)の発現が減少しており¹、これが卵巣子宮内膜症に対するホルモン療法が効きにくい一要因となっている可能性がある。

最近、HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor type 2) 蛋白の過剰発現している転移性乳癌の治療にトラスツズマブ (ハーセプチン) が好成績を上げている² が、HER2 蛋白過剰発現している乳癌細胞には ER, PR 発現が減少している³。もし、ER, PR 発現の減少している卵巣チョコレート嚢胞で HER2 蛋白の発現が認められれば、卵巣チョコレート嚢胞に対する新たな治療戦略が可能となるかもしれない。

また、病理組織学的検討から卵巣チョコレート嚢

胞を含む卵巣子宮内膜症は卵巣明細胞腺癌や卵巣類内膜腺癌の発生母地となることが指摘されている⁴⁻¹⁷。さらに、類内膜腺癌の発生には PTEN 遺伝子が関与していることが明確となったが¹⁸⁻²¹、卵巣明細胞腺癌の発生機序は明らかではない。最近、卵巣明細胞腺癌で HER2 蛋白の過剰発現が高率に発現していることが報告されており²²、卵巣チョコレート嚢胞から卵巣明細胞腺癌への癌化に HER2 蛋白の過剰発現が関与しているかもしれない。

そこで今回、卵巣チョコレート嚢胞における HER2 蛋白の発現を免疫組織化学的に検討するとともに、卵巣チョコレート嚢胞から癌化した卵巣癌症例、さらに卵巣明細胞腺癌に合併する卵巣子宮内膜症についても HER2 蛋白の発現を免疫組織化学的に検討した。

方 法

近畿大学医学部奈良病院産婦人科にて手術摘出した症例のうち今回の研究に同意を得られた正所性子

宮内膜5例, 子宮腺筋症5例および卵巣チョコレート嚢胞10例のホルマリン包埋切片を用いてER, PR, およびHER2蛋白を免疫組織化学的に染色し, それらの染色の局在と染色陽性率について検討した. さらに, 卵巣チョコレート嚢胞から癌化した卵巣類内膜腺癌1例と卵巣明細胞腺癌1例, さらに, 卵巣子宮内膜症を合併した卵巣明細胞腺癌13例についても同様に同意を得た上で検討した. 卵巣明細胞腺癌に合併している子宮内膜症のうち, Fukunagaら¹⁶の基準(表1)を満たすものを異型子宮内膜症(atypical endometriosis)と診断してそれらのHER2蛋白発現状態を検討した.

免疫組織化学的染色はPCL JAPANにて行い, 染色状態の評価は産婦人科腫瘍学会専門医2名と病理医1名で判定した. ER, PRに関しては染色されている細胞が5%未満のものを-, 5~50%を1+, 50%以上のものを2+とし, 2+を染色陽性として染色陽性率を算出した.

HER2蛋白の染色判定に関しては乳癌のHER2判定基準²³(表2)に基づいて染色スコアを0, 1+, 2+, 3+の4つに分類し(図1), 1+以上を陽性として染色陽性率を算出した. また, 2+および3+をHER2蛋白過剰発現とした.

さらに, HER2蛋白過剰発現(2+および3+)を示す症例にはFISH法(PCL JAPANに依頼)によりHER2遺伝子の増幅の有無を確認した.

表1 atypical endometriosis の診断基準

下記の所見を3つ以上認めるendometriosisをatypical endometriosisとする

1. hyperchromasia
2. increased nuclear to cytoplasmic ratio
3. cellular crowding
4. stratification
5. tufting
6. crowding of glands

(Fukunaga et al. Histopathology 30: 249-255, 1997)

表2 HER2 判定基準 (乳癌)

スコア	染色パターン
0	細胞膜に陽性染色なし, もしくは細胞膜の陽性染色がある腫瘍細胞が10%未満
1+	ほとんど識別できないほど, かすかな細胞膜の染色がある腫瘍細胞が10%以上. 腫瘍細胞は細胞膜のみが部分的に染色
2+	弱~中等度の完全な細胞膜の陽性染色がある細胞が10%以上
3+	強い完全な細胞膜の陽性染色がある細胞が10%以上

結 果

正所性子宮内膜におけるER, PRはほぼすべての上皮細胞および間質細胞に認められたが, HER2蛋白の発現は上皮細胞に認められなかった(図2).

子宮腺筋症におけるER, PR, HER2蛋白は正所性子宮内膜と同様, ER, PRはほぼすべての上皮細胞および間質細胞に認められたが, HER2蛋白の発現は上皮細胞に認められなかった(図3).

卵巣チョコレート嚢胞におけるER, PR, HER2

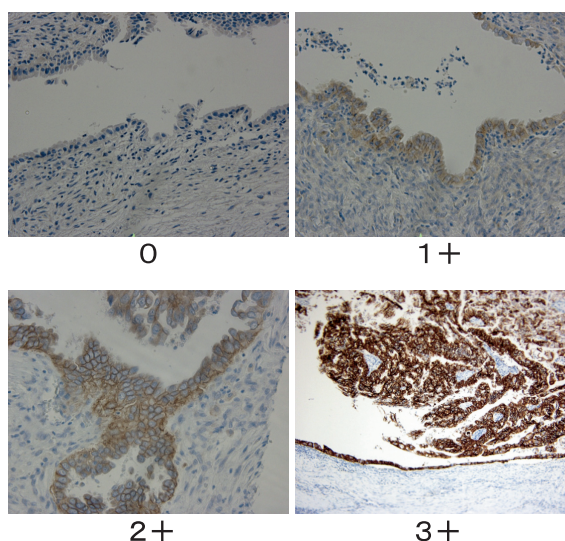


図1 HER2蛋白の発現状態

- 0, 1+: 卵巣チョコレート嚢胞
2+: 卵巣異型子宮内膜症
3+: 卵巣明細胞腺癌と卵巣子宮内膜症の移行部分

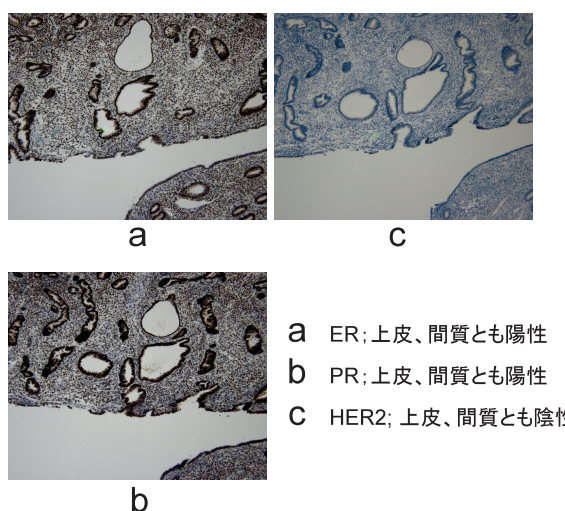


図2 正所性子宮内膜におけるER, PR, HER2蛋白発現

- a ER; 上皮, 間質とも陽性
b PR; 上皮, 間質とも陽性
c HER2; 上皮, 間質とも陰性

蛋白の発現状態を示す(図4)。正所性子宮内膜に比べ、ER、PRの発現は上皮細胞、間質細胞とも減弱しているが、一部の上皮細胞にHER2蛋白の発現が認められた。

表3に卵巣チョコレート嚢胞におけるER、PR、HER2蛋白の染色状態を示した。特に、上皮細胞でER、PRの発現が著しく減少しているが、上皮細胞のHER2蛋白の染色陽性率は80%で、HER2蛋白過剰発現しているものは30%に認められた。

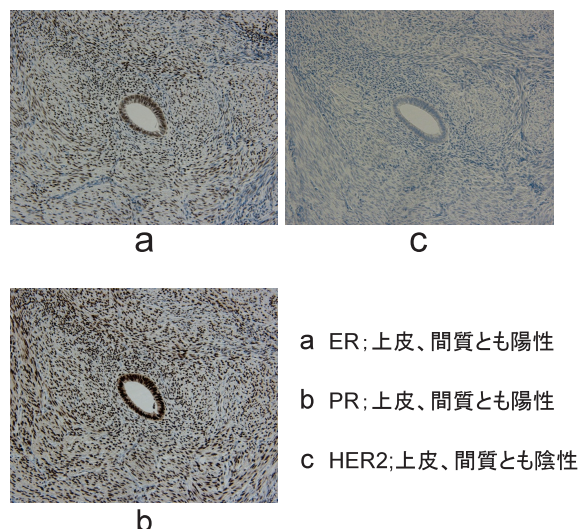


図3 子宮腺筋症におけるER、PR、HER2蛋白発現
 a ER; 上皮、間質とも陽性
 b PR; 上皮、間質とも陽性
 c HER2; 上皮、間質とも陰性

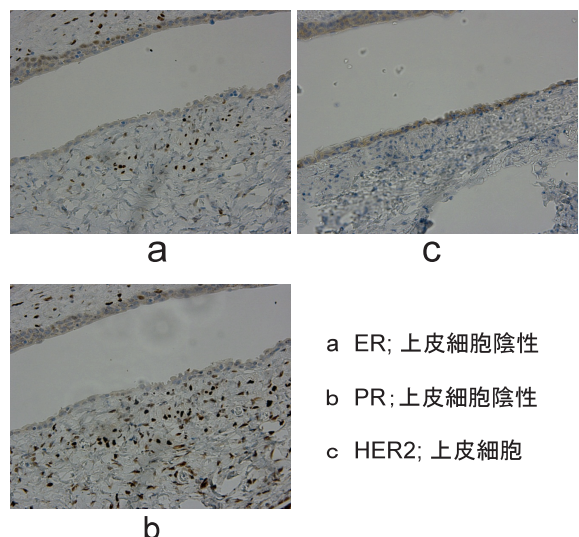


図4 卵巣チョコレート嚢胞の上皮細胞におけるER、PR、HER2蛋白発現
 a ER; 上皮細胞陰性
 b PR; 上皮細胞陰性
 c HER2; 上皮細胞陽性(2+)

チョコレート嚢胞から発生した卵巣類内膜腺癌への移行部の子宮内膜類似上皮にはER、PRの発現は認められたがHER2蛋白の発現は認められなかった(図5)。これに対して、チョコレート嚢胞から発生した明細胞腺癌の移行部分での子宮内膜類似上皮にはER、PRの発現はほとんど認めない代わりにHER2蛋白の発現(2+)が認められた(図6)。

卵巣子宮内膜症を合併した卵巣明細胞腺癌におけるHER2蛋白過剰発現は卵巣子宮内膜症0.0%、異型子宮内膜症33.3%、卵巣明細胞腺癌69.2%に認められ(表4)、異型子宮内膜症でHER2過剰発現している症例のすべてで明細胞腺癌部分でもHER2蛋白過剰発現を示していた。

表3 卵巣チョコレート嚢胞におけるER、PRおよびHER2の発現

症例	ER		PR		HER2	
	上皮	間質	上皮	間質	上皮	間質
1	2+	2+	2+	2+	2+	+
2	2+	2+	1+	2+	1+	+
3	-	1+	-	2+	0	+
4	1+	1+	-	1+	1+	+
5	1+	2+	-	1+	2+	+
6	1+	2+	-	2+	1+	+
7	2+	2+	1+	2+	2+	-
8	1+	2+	1+	2+	1+	+
9	1+	2+	1+	2+	0	+
10	2+	2+	1+	2+	1+	+
陽性率	40%	80%	10%	80%	80%	90%

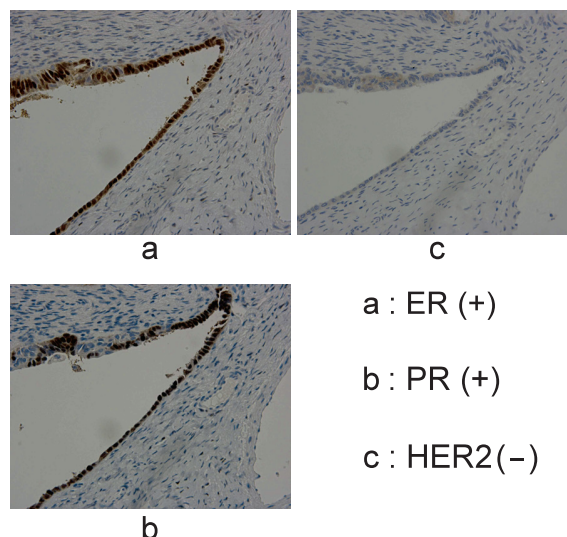


図5 卵巣チョコレート嚢胞の免疫組織化学染色(卵巣チョコレート嚢胞から発生した類内膜腺癌症例)
 a: ER (+) b: PR (+)
 c: HER2 (-)

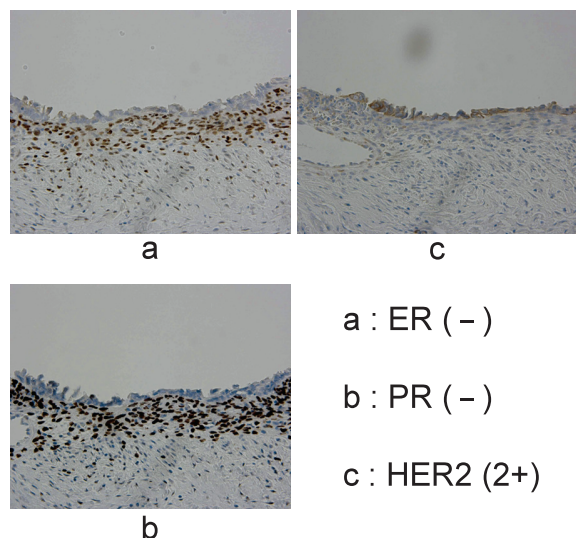


図6 卵巣チョコレート嚢胞の免疫組織化学染色 (卵巣チョコレート嚢胞から発生した明細胞腺癌症例)
 a : ER (-) b : PR (-)
 c : HER2 (+)

表4 卵巣明細胞腺癌に合併する卵巣子宮内膜症における HER2 over-expression

histological type	over-expression (%)
ovarian endometriosis	0/8 (0.0)
atypical endometriosis	3/9 (33.3)
clear cell adenocarcinoma	9/13 (69.2)

FISH 法による *HER2* 遺伝子の増幅はいずれの組織からも確認されなかった。

考 察

ヒト癌遺伝子 *HER2/neu (c-erbB-2)* の遺伝子産物である HER2 蛋白は、ヒト上皮増殖因子受容体ファミリーに属する増殖因子受容体であり、その細胞質側にチロシンキナーゼ活性領域を有する分子量約 185 kDa の膜貫通型蛋白質である²⁴。乳癌細胞において HER2 蛋白が高発現しているものには ER, PR の発現が減弱していると報告されている³。トラスツマブは乳癌治療薬としては世界最初のヒト化モノクローナル抗体治療薬で、1998年に米国 FDA で認可され、日本では2001年4月に HER2 過剰発現が確認された転移性乳癌に対する治療薬として承認された。さらに、HER2 陽性胃癌に対するトラスツマブの効果が確認され^{25,26}、2010年3月に HER2 陽性胃癌に対しても適応となった。トラスツマブは HER2 蛋白に特異的に結合した後、NK 細胞、単球を作用細胞とした抗体依存性細胞障害作用により抗腫瘍効果が発揮される。

卵巣チョコレート嚢胞の子宮内膜類似上皮細胞における ER, PR の発現は減弱しており¹、これが卵巣チョコレート嚢胞に対するホルモン療法の有効性を下げている一要因であると考えられる。今回、新たな治療戦略を求めてチョコレート嚢胞における HER2 蛋白の発現状態を検討した結果、染色陽性率は80%であったが、HER2 蛋白の3+染色が認められず、遺伝子増幅も認められなかったことから、トラスツマブによる治療効果は期待できないかもしれない。しかしながら、トラスツマブと GnRH アナログとの併用で治療効果が上がる可能性もあるが、副作用で心毒性が問題となる薬剤であり臨床試験へ進むには倫理的に問題がある。

卵巣子宮内膜症は卵巣類内膜腺癌や卵巣明細胞腺癌の発生母地となりうる事が病理組織学的に確認され⁴⁻¹⁷、両者に合併する卵巣子宮内膜症は卵巣表層上皮を起源とし、中皮の性格が残っている卵巣子宮内膜症から卵巣明細胞腺癌が、ミューラー管型上皮に分化した卵巣子宮内膜症から卵巣類内膜腺癌が発生している可能性が示された¹⁷。また、遺伝子学的検討から卵巣類内膜腺癌の発生には *PTEN* 遺伝子の異常が深く関わっていることが報告され¹⁷⁻²⁰、ラットを用いて、*K-ras* 遺伝子を活性化することで卵巣子宮内膜症が発生し、さらに、*PTEN* 遺伝子を不活化することで卵巣子宮内膜症から卵巣類内膜腺癌が発生することが確認された²¹。しかしながら、卵巣明細胞腺癌の発生過程については未だ解明されていない。

最近、卵巣チョコレート嚢胞の内容液に含まれている血液成分のヘムが酸化ストレスを引き起こしこれが卵巣チョコレート嚢胞の癌化に関与していることが報告され²⁷、酸化ストレスに関与する遺伝子の1つである *NHS-1β* が明細胞腺癌で高発現していることも報告されているが²⁸、その発癌過程は明らかになっていない。また、卵巣癌における HER2 蛋白の発現および *HER2* 遺伝子の増幅は明細胞腺癌で高率に認められている²²。今回の検討では子宮内膜症から発生した明細胞腺癌および移行部分に見られる子宮内膜類似上皮に HER2 蛋白の過剰発現を認めており、さらに、卵巣明細胞腺癌に合併している異型子宮内膜症の33.3%で HER2 蛋白の過剰発現が認められ、そのすべてが明細胞腺癌でも HER2 蛋白過剰発現をみとめていたことから、HER2 蛋白の過剰発現が卵巣明細胞腺癌の発生に関与している可能性が考えられた。また、今回の検討で卵巣チョコレート嚢胞の子宮内膜類似上皮細胞の80%に HER2 蛋白の発現が認められており、少なくとも卵巣チョコレート嚢胞は卵巣明細胞腺癌の発生母地として最

適な状態となっていることが示された。

結 論

1. 卵巣チョコレート嚢胞の上皮細胞に HER2 蛋白の発現が初めて確認された。
2. 卵巣明細胞腺癌の発生過程で HER2 蛋白の過剰発現が関与している可能性が示唆された。
3. 卵巣チョコレート嚢胞は卵巣明細胞腺癌の発生母地として最適な状態であることが示された。

文 献

1. 小池英爾, 小畑孝四郎, 中井里香, 椎名昌美, 安田佳子, 星合 昊 (2008) 卵巣子宮内膜症性嚢胞の成因に関する研究. 近畿大医誌 33: 57-61
2. Jackisch C (2006) HER-2-positive metastatic breast cancer: optimizing trastuzumab-based therapy. *Oncologist* 11: 34-41
3. Lal P, Tan LK, Chen B (2005) Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 123: 541-546
4. Scully RE, Richardson GS, Barlow JF (1966) The development of malignancy in endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 9: 384-411
5. Aure JC, Hoeq K, Kolstad P (1971) Carcinoma of the ovary and endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 50: 63-67
6. Kurman RJ, Craig JM (1972) Endometrioid and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer* 29: 1653-1664
7. Brescia RJ, Dubin N, Demopoulos RI (1989) Endometrioid and clear cell carcinoma of the ovary. *Int J Gynecol Pathol* 8: 132-138
8. Crozier MA, Copeland LJ, Silva EG, Gershenson DM, Stringer CA (1989) Clear cell carcinoma of the ovary: A Study of 59 cases. *Gynecol Oncol* 35: 199-203
9. Jenison EL, Montag AG, Griffiths CT, Welch WR, Lavin PT, Greer J, Knapp RC (1989) Clear cell adenocarcinoma of the ovary: A clinical analysis and comparison with serous carcinoma. *Gynecol Oncol* 32: 65-71
10. DePriest PD, Banks ER, Powell DE, van Nagell JR Jr, Gallion HH, Puls LE, Hunter JE, Kryscio RJ, Royalty MB (1992) Endometrioid carcinoma of the ovary and endometriosis. *Gynecol Oncol* 47: 71-75
11. Vercellini P, Parazzini F, Bolis G, Carinelli S, Dindelli M, Vendola N, Luchini L, Crosignani PG (1993) Endometriosis and ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 169: 181-182
12. MacMeekin DS, Burger RA, Manetta A, DiSaia P, Berman ML (1995) Endometrioid adenocarcinoma of the ovary and its relationship to endometriosis. *Gynecol Oncol* 59: 81-86
13. Cuesta RS, Eichhorn JH, Rice LW, Fuller AF Jr, Nikrui N, Goff BA (1996) Histologic transformation of benign endometriosis to early epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 60: 238-244
14. Goff BA, Cuesta RS, Muntz HG, Fleischhacker D, Ek M, Rice LW, Nikrui N, Tamimi HK, Cain JM, Greer BE, Fuller AF Jr (1996) Clear cell adenocarcinoma of the ovary: A distinct histologic type with poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy in stage III disease. *Gynecol Oncol* 60: 412-417
15. Jimbo H, Yoshikawa H, Onda T, Yasugi T, Sakamoto A, Taketani Y (1997) Prevalence of ovarian endometriosis in epithelial ovarian cancer. *Int J Obstet Gynecol* 59: 245-250
16. Fukunaga M, Nomura K, Ishikawa E, Ushigome S (1997) Ovarian atypical endometriosis: Its close association with malignant epithelial tumours. *Histopathology* 30: 249-255
17. 小畑孝四郎 (2003) 卵巣子宮内膜症の癌化とその治療. 日産婦会誌 55: 890-902
18. Obata K, Morland SJ, Watson RH, Hitchcock A, Chenevix-Trench G, Thomas EJ, Campbell IG (1998) Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors. *Cancer Res* 15: 2095-2097
19. Obata K, Hoshiai H (2000) Common genetic changes between endometriosis and ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest* 50: 39-43
20. Sato N, Tsunoda H, Nishida M, Morishita Y, Takimoto Y, Kubo T, Noguchi M (2000) Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res* 60: 7052-7056
21. Dinulescu DM, Ince TA, Quade BJ, Shafer SA, Crowley D, Jacks T (2004) Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer. *Nat Med* 11: 63-70
22. Fujimura M, Katsumata N, Tsuda H, Uchi N, Miyazaki S, Hidaka T, Sakai M, Saito S (2002) HER2 is frequently over-expressed in ovarian clear adenocarcinoma: possible novel treatment modality using recombinant monoclonal antibody against HER2, trastuzumab. *Jpn J Cancer Res* 93: 1250-1257
23. Kounelis S, Kapranos N, Malamos N, Kouribairaktari E (2005) Evaluation of HER2 gene status in breast cancer by chromogenic in situ hybridization: comparison with immunohistochemistry. *Anticancer Res* 25: 939-946
24. Archer SG, Eliopoulos A, Spandidos D, Bames D, Ellis IO, Blamery RW, Nicholson RI, Robertson JF (1995) Expression of ras p21, p53 and c-erbB-2 in advanced breast cancer and response to first line hormonal therapy. *Br J Cancer* 72: 1259-1266
25. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK; ToGA Trial Investigators (2010) Trast-

- uzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA) : a phase 3, open-label, randomized controlled trial. *Lancet* 376 : 687-697
26. Okines AF, Dewdney A, Chau I, Rao S, Cunningham D (2010) Trastuzumab for gastric cancer treatment. *Lancet* 376 : 1736-1737
27. Yamaguchi K, Mandai M, Toyokuni S, Hamanishi J, Higuchi T, Takakura K, Fujii S (2008) Contents of endometriotic cysts, especially the high concentration of free iron, are a possible cause of carcinogenesis in the cysts through the iron-induced persistent oxidative stress. *Clin Cancer Res* 14 : 32-40
28. Kobayashi H, Yamada Y, Kanayama S, Furukawa N, Noguchi T, Haruta S, Yoshida S, Sakata M, Sado T, Oi H (2009) The role of hepatocyte nuclear factor-1 beta in the pathogenesis of clear cell carcinoma of the ovary. *Int J Gynecol Cancer* 19 : 471-479